

**Ação toxicológica da cantaxantina sobre a morfologia de rins e fígados da prole de camundongas que consumiram truta salmonada****Toxicological action of cantaxantine on the morphology of kidney and liver from the prole of mice that consumed salmoned trout**

DOI:10.34117/bjdv6n4-310

Recebimento dos originais: 10/03/2020

Aceitação para publicação: 24/04/2020

**Juliana Tomaz Pacheco Latini**

Professora Adjunta da Faculdade de Farmácia – Doutora em Ciências Médicas  
Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé, Polo Novo Cavaleiros.

Endereço: Rua Alcides da Conceição, nº159 – Vale Encantado, Macaé, Rio de Janeiro.  
Laboratório de Patologia Toxicológica

**Marta Maciel Dudus**

Professora Assistente da Faculdade de Medicina – Mestre em Ciências Ambientais e da Conservação

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé.  
Endereço: Rua Aloísio da Silva Gomes, nº50 – Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro

**Marina Matos Souto**

Discentes do Curso de Medicina

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé  
Endereço: Rua Aloísio da Silva Gomes, nº50 – Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro

**Isabella Gonçalves de Oliveira Vilela**

Discentes do Curso de Medicina

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé  
Endereço: Rua Aloísio da Silva Gomes, nº50 – Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro

**Igor Jenkins Paim Oliveira**

Discentes do Curso de Medicina

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé  
Endereço: Rua Aloísio da Silva Gomes, nº50 – Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro

**Raiane Fonseca Silva Herdy**

Médicas com graduação pela Universidade Federal do Rio de Janeiro Campus Macaé (UFRJ/Macaé)

Endereço: Rua Aloísio da Silva Gomes, nº50 – Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro

**Xiaoxin Wu**

Médicas com graduação pela Universidade Federal do Rio de Janeiro Campus Macaé (UFRJ/Macaé)

Endereço: Rua Aloísio da Silva Gomes, nº50 – Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro

**Kátia Calvi Lenzi de Almeida**

Professora Associada do Curso de Medicina – Doutora em Patologia Geral  
Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé, Polo Novo  
Cavaleiros.

Endereço: Rua Alcides da Conceição, nº159 – Vale Encantado, Macaé, Rio de Janeiro.  
Laboratório de Patologia Toxicológica

**RESUMO**

Introdução: Esse estudo teve por objetivo avaliar os efeitos toxicológicos da cantaxantina na prole de camundongas consumidoras de truta salmonada. Metodologia: Formou-se quatro grupos: 1- Grupo Caseína (CG) recebendo dieta padrão/controle, 2- Grupo Cantaxantina (CGX) recebendo a ração padrão acrescida de 0,6% de cantaxantina, 3- Grupo Truta Salmonada (STG) recebendo ração padrão acrescida desse peixe e 4- Grupo Salmão Selvagem (WSG) recebendo ração padrão acrescida de salmão selvagem. As mães dos camundongos alvo foram alimentadas durante a gestação e lactação com as mesmas dietas que sua prole, sendo a prole eutanasiada nos períodos de 40 e 70 dias de vida (P40 e P70). Foram coletados dados de peso corporal, de órgãos e consumo das rações. Fígado e rins foram processados de forma rotineira para inclusão em parafina e corados com HE. Resultados: Os fígados, rins direitos e rins esquerdos eram mais pesados nos animais do STG quando comparados aos animais do WSG (P40 e P70). Histopatologicamente, houve sinais de toxicidade em fígado e rins nos grupos CGX e STG (P40 e P70), sendo mais intensos neste último. Os fígados apresentaram esteatose e congestão e os rins, glomérulos tumefeitos, túbulos com necrose e congestão. Conclusão: A cantaxantina tem ação tóxica sobre os rins e fígado de prole de camundongas alimentadas com truta salmonada.

**Palavras-chave:** Corante, salmão, toxicidade, ômega-3 e roedores.

**ABSTRACT**

Introduction: This study aimed to evaluate the toxicological effects of canthaxanthin on the offspring of salmon trout consuming mice. Methodology: Four groups were formed: 1- Casein Group (CG) receiving standard / control diet, 2- Canthaxanthin Group (CGX) receiving the standard diet plus 0.6% canthaxanthin, 3- Salmon Trout Group (STG) receiving standard ration plus this fish and 4- Wild Salmon Group (WSG) receiving standard ration plus wild salmon. The mothers of the target mice were fed during pregnancy and lactation with the same diets as their offspring, the offspring being euthanized during the periods of 40 and 70 days of life (P40 and P70). Data on body weight, organs and feed intake were collected. Liver and kidneys were processed routinely for inclusion in paraffin and stained with HE. Results: Livers, right kidneys and left kidneys were heavier in STG animals when compared to WSG animals (P40 and P70). Histopathologically, there were signs of toxicity in the liver and kidneys in the CGX and STG groups (P40 and P70), being more intense in the latter. The livers showed steatosis and congestion and the kidneys, swollen glomeruli, tubules with necrosis and congestion. Conclusion: Canthaxanthin has a toxic action on the kidneys and liver of offspring of mice fed salmon trout.

**Keywords:** Dye, salmon, toxicity, omega-3 and rodents.

**1 INTRODUÇÃO**

Durante muito tempo a produção e fabricação dos alimentos eram realizadas na mesma região ou em regiões próximas às de comercialização. Com a necessidade de acessar regiões mais distantes na ampliação do comércio, foram criadas estratégias para manter a qualidade e integridade dos

alimentos. Dentre estas estratégias encontra-se a utilização de aditivos alimentares visando melhorar a armazenagem, aumentar a vida de prateleira, torná-lo mais atraente visualmente e também baratear sua produção [1].

Com a introdução desses aditivos na indústria do pescado, o salmão que era considerado um peixe raro e caro, passou a ser encontrado mais facilmente e com preços mais acessíveis. Ocorre que com o crescimento da indústria de pesca de cativeiro e com a ampla divulgação da importância do ômega-3 através dos meios de comunicação, houve a expansão dos criadouros de peixes (Stafen, 2015). Os peixes criados na maioria dos cativeiros são trutas, semelhantes ao salmão em sabor e textura, porém alimentados com ração acrescida de cantaxantina.

A cantaxantina é um carotenóide que vem sendo largamente utilizado na indústria do pescado, buscando coloração similar com a carne do salmão (Sujak, 2005; Esatbeyoglu & Rimbach, 2017), alaranjada. Também possui propriedade antioxidante que confere proteção aos alimentos e, conseqüentemente, estende sua vida de prateleira (Souza *et al*, 2012; Carvalho, 2012). Apesar dos benefícios, o uso da cantaxantina mostrou como efeito tóxico em humanos o desenvolvimento de retinopatia (Beaulieu *et al*, 2013) e anemia aplásica, causadas pelo uso de bronzeadores orais (Merlo, *et al*, 2011; Bluhm *et al*, 1990).

Sujak (2005, 2009) relacionou a toxicidade da cantaxantina com as interações que poderiam ocorrer entre este corante e as moléculas lipídicas. Os carotenóides possuem mecanismos de digestão e absorção semelhante aos lipídios, onde, por ação enzimática, são retirados e absorvidos de forma passiva por vários tecidos e em seguida se ligam à Proteína de Ligação Plasmática ao Retinol (RBP) para passar ao plasma, ou são captados pela Proteína de Ligação Celular de Retinol (RBP II, citoplasmática), sendo então levados aos sítios de estocagem (Lima, 2012; Vaisbich *et al*, 1999).

Uma questão não menos importante sobre o consumo desses peixes de cativeiro, refere-se ao fato deles não possuírem a riqueza de ômega-3 do salmão selvagem, ao contrário, são ricos em gorduras saturadas oriundas da ração oferecida no cativeiro (INMETRO, 2011), e possuem alta quantidade de cantaxantina. Este trabalho objetivou avaliar os aspectos toxicológicos da cantaxantina, utilizada no processamento tecnológico de trutas salmonadas, sobre os rins e fígado da prole de camundongas alimentadas com esses peixes.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFRJ/Campus Macaé.

**2.1 RAÇÕES EXPERIMENTAIS**

Utilizou-se rações de caseína (padrão), caseína adicionada de truta salmonada, caseína com adição de 0,6% de cantaxantina e de caseína adicionada de salmão selvagem. Em todas as rações foram adicionadas misturas de minerais e de vitaminas, confeccionadas seguindo recomendações da American Institute of Nutrition (AIN 93G) (Reeves, 1993), conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1- Composição das dietas (g/100g)

| Ingredientes                  | Dietas |        |        |        |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                               | CG     | STG    | CGX    | WSS    |
| Caseína <sup>a</sup>          | 10,87  | 6,35   | 18,92  | 6,35   |
| Truta Salmonada               | -      | 21,70  | -      | -      |
| Salmão selvagem               | -      | -      | -      | 21,70  |
| Cantaxantina                  | -      | -      | 0,6    | -      |
| Amido de milho <sup>b</sup>   | 62,08  | 50,11  | 53,42  | 50,11  |
| Açúcar <sup>c</sup>           | 10,00  | 10,00  | 10,00  | 10,00  |
| Mix de minerais <sup>a</sup>  | 3,50   | 3,50   | 3,50   | 3,50   |
| Mix de Vitaminas <sup>a</sup> | 1,00   | 1,00   | 1,00   | 1,00   |
| Óleo de soja <sup>c</sup>     | 7,00   | 1,79   | 7,00   | 1,79   |
| Fibras <sup>d</sup>           | 5,00   | 5,00   | 5,00   | 5,00   |
| B-colin <sup>a</sup>          | 0,25   | 0,25   | 0,25   | 0,25   |
| Cistin <sup>a</sup>           | 0,30   | 0,30   | 0,30   | 0,30   |
| Total                         | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| Energia (kcal/100g)           | 394,80 | 388,75 | 390,70 | 388,75 |

<sup>a</sup> Rhooster Indústria e Comércio Ltda, <sup>b</sup> Maizena, <sup>c</sup> Liza, <sup>d</sup> Macrocel, <sup>e</sup> União

**2.2 ANIMAIS**

Inicialmente utilizou-se 30 camundongos swiss (*Mus musculus*), sendo 24 fêmeas e 6 machos, que foram acasalados na proporção 1 macho/4 fêmeas. As fêmeas prenhas foram separadas em grupos quanto à composição da ração consumida: Grupo Controle (CG) composto apenas por caseína como fonte proteica, Grupo caseína + cantaxantina (CGX), Grupo caseína + truta Salmonada (STG) e Grupo caseína + salmão selvagem (WSG).

### 2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

No período de lactação, as mães continuaram se alimentando com a dieta do grupo ao qual faziam parte. Posteriormente ao desmame, aos 21 dias, a prole foi dividida nos grupos aos quais suas mães pertenciam, onde recebiam a ração de seu grupo específico e água ad libitum. Os filhotes foram eutanasiados com quarenta (P40) e setenta dias de vida (P70). Os animais foram pesados duas vezes por semana para determinar a variação de peso. A oferta de rações também foi mensurada.

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas estabelecidas no guia convencional para a experimentação animal (Publicação NIH nº.85 23, revisado em 1996) e as recomendações nacionais impostas pela Lei Arouca (11.794/2008).

### 2.4 PESO DOS ÓRGÃOS

Após a eutanásia, foi feita uma incisão vertical para coleta de fígados e rins. Os órgãos foram pesados utilizando-se balança Sartorius-BP 221S, capacidade máxima: 220g; d= 0,1mg.

### 2.5 HISTOMORFOPATOLOGIA

Os órgãos foram seccionados e seguiram processamento rotineiro para inclusão em parafina e coloração com hematoxilina-eosina. Após confecção, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico (modelo LX 500) e fotografadas utilizando câmera iVm 5000, através do programa ProgRes Capture Pro 2.7, para descrição histomorfopatológica.

### 2.6 GENÉTICA QUÍMICA

Buscando entender de modo mais específico as ações da cantaxantina a nível molecular, realizamos uma busca através da genética química envolvendo a sua proteína de ligação. A proteína RBP realiza o transporte da cantaxantina do intestino para o plasma, e a RBP II (Proteína celular de ligação ao retinol) realiza seu transporte intracelular (Goodman, 1980 e 1981). Para tal propósito, utilizamos a ferramenta Eukaryotic Linear Motif (ELM, 2016), a qual funciona como um repositório de dados contendo um vasto acervo de proteínas, assim como suas possíveis interações em diversos organismos. A exploração desses dados permite a previsão de outros. A palavra motif contida no nome da ferramenta, refere-se a sítios de interações contidos nas proteínas, sendo pontos de interação de proteínas com pequenos aglomerados moleculares de aminoácidos. São pontos de localização nos proteomas que, uma vez acionados, fornecem uma ampla gama de funcionalidade às proteínas. Conforme a funcionalidade acionada, desempenham papéis fundamentais na regulação celular. Por isso também estão envolvidas no desencadeamento de diversas doenças. Considerando que o presente trabalho postula sobre o acúmulo de cantaxantina em salmonídeos, murino e humanos, buscamos pela

presença da proteína RBP II em organismos *Salmo salar*, *Mus musculus* e *Homo sapiens*, assim como suas interações biológicas.

## 2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística a normalidade dos dados foi avaliada e os dados submetidos à comparação entre si utilizando-se o teste one-way ANOVA. Nos resultados que não apresentaram a distribuição normal foi aplicado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, seguido pelo pos-test de Dunn. A significância em todos os testes foi estabelecida ao nível de  $p \leq 0,05$ . Tais análises estatísticas foram realizadas pelo programa GraphPadPrism versão 4.03 para Windows (GraphPad Software, São Diego, Califórnia, EUA).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 PESO CORPORAL

Ao avaliarmos o peso corporal dos animais dos quatro grupos aos 40 dias de vida (gráfico A; figura 1) notamos que não houve entre os camundongos dos diferentes grupos. Em contrapartida, aos 70 dias de vida (gráfico B; figura 1), notamos que houve diferença estatística significativa, onde os camundongos STG apresentaram peso corporal maior quando comparados aos animais do grupo controle (CG).

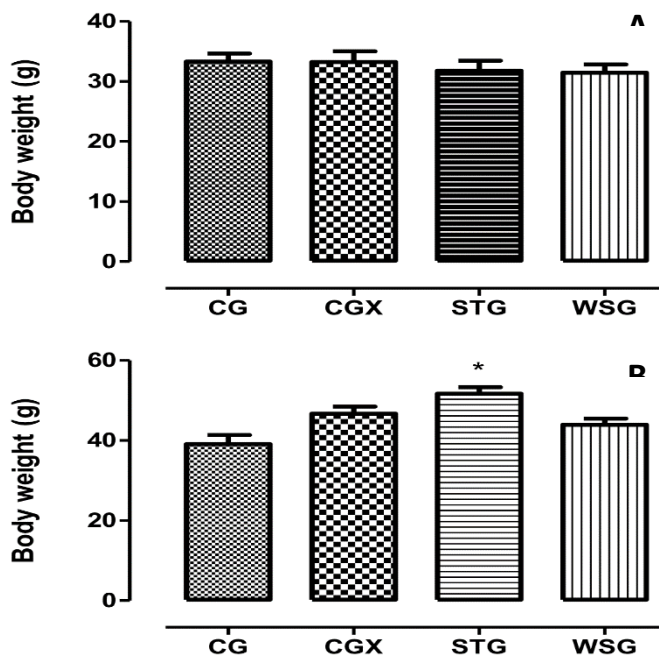


Figura 1 – Peso corporal dos animais dos 4 grupos com 40 (A) e 70 (B) dias de vida (CG: Grupo Controle, CGX: Grupo Cantaxantina, STG: Grupo truta Salmonada e WSG: Grupo Salmão Selvagem)

## 3.2 PESO HEPÁTICO

Analisando o peso hepático (gráfico A; figura 2), notamos que aos 40 dias de vida não houve significância estatística entre os grupos avaliados: CG ( $1,775 \pm 0,13g$ ), CGX ( $1,635 \pm 0,32g$ ), STG ( $2,167 \pm 1,16g$ ) e WSG ( $2,066 \pm 1,18g$ ), apesar dos animais do STG terem apresentado valores numericamente superiores quando comparados aos demais grupos (gráfico A3; figura 2). Já aos 70 dias de vida notamos que os animais do STG ( $3,177 \pm 0,78g$ ) apresentaram valores superiores, com significância estatística para peso hepático, quando comparados aos animais do WSG ( $2,704 \pm 1,44g$ ); e ambos quando comparados ao CG ( $1,521 \pm 0,20g$ ). Já o CGX apresentou o valor de  $1,992 \pm 0,23g$  (gráfico B3; figura 2).

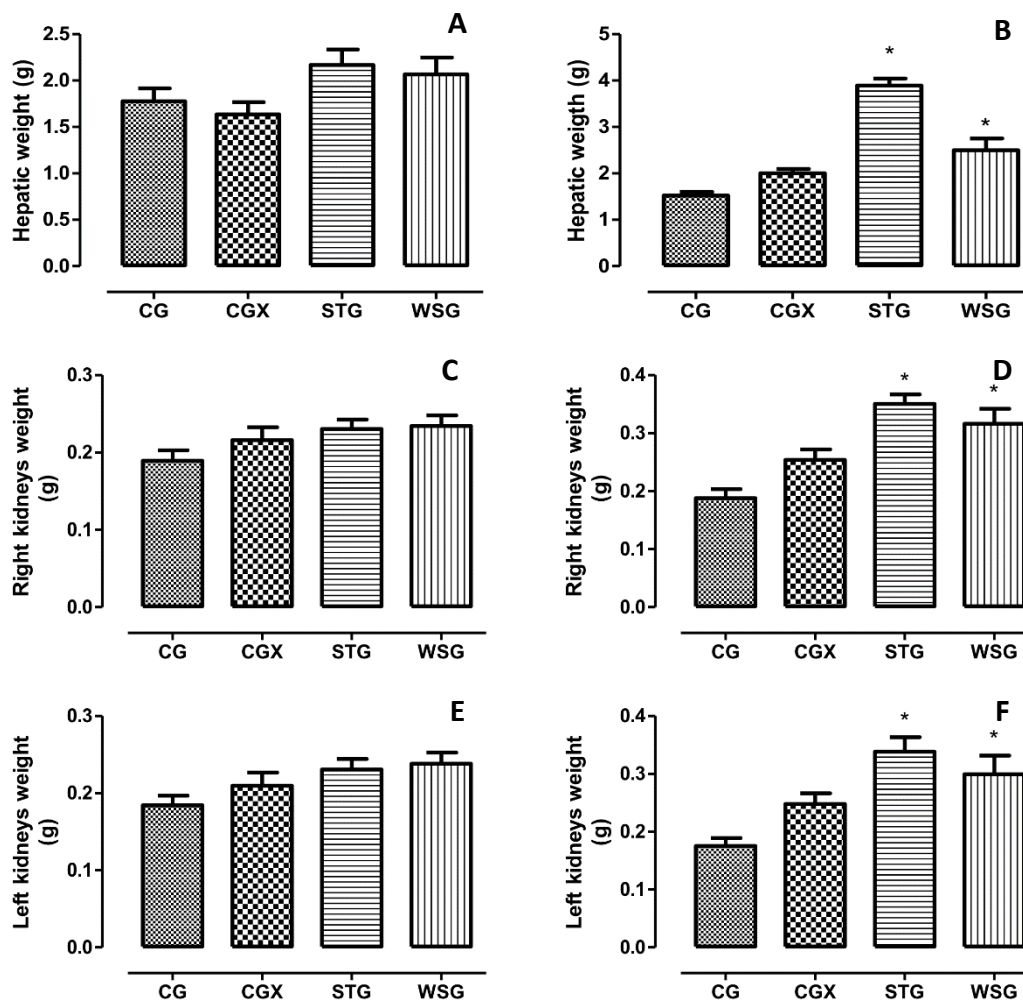


Figura 2 – Peso de órgãos dos 4 grupos aos 40 e 70 dias de vida. Peso hepático dos animais com 40 dias (2A) e 70 dias de vida (2B), peso de rim direito dos animais com 40 dias (2C) e 70 dias de vida (2D), peso de rim esquerdo dos animais com 40 dias (2E) e 70 dias de vida (2F). (CG: Grupo Controle, CGX: Grupo Cantaxantina, STG: Grupo Truta Salmonada e WSG: Grupo Salmão Selvagem)



### 3.3 PESO RENAL

Ao analisarmos os rins direitos dos animais com 40 dias de vida (CG:  $0,189 \pm 0,16g$ ; CGX:  $0,215 \pm 0,19g$ ; STG:  $0,230 \pm 0,006g$  e WSG:  $0,234 \pm 0,007g$ ) e esquerdos (CG:  $0,184 \pm 0,42g$ ; CGX:  $0,209 \pm 0,13g$ ; STG:  $0,232 \pm 0,007g$  e WSG:  $0,238 \pm 0,007g$ ) notamos que não houve significância estatística entre os 4 grupos estudados em nenhuma das idades avaliadas (gráficos A4 e A5; figura 2). Já na análise dos pesos renal direito e esquerdo dos animais com 70 dias de vida, notamos que os animais do STG ( $0,350 \pm 0,001g$ ) apresentaram valores superiores, com significância estatística, para o rim direito quando comparados ao WSG ( $0,315 \pm 0,013g$ ), e ambos foram superiores ao CG ( $0,188 \pm 0,04g$ ). O mesmo foi observado para o rim esquerdo dos animais, onde CG:  $0,175 \pm 0,03g$ ; CGX:  $0,215 \pm 0,04g$ ; STG:  $0,338 \pm 0,005g$  e WSG:  $0,301 \pm 0,024g$  (gráficos B4 e B5; figura 4)

### 3.4 HISTOMORFOPATOLOGIA RENAL E HEPÁTICA

Na análise histomorfológica renal, tanto dos animais P40 quanto naqueles com P70, no grupo CG foram observados glomérulos com celularidade normal e os túbulos contornados com citoplasma róseo e abundante (figura 3). No grupo CGX foram observados glomérulos tumefeitos, túbulos com necrose do epitélio de revestimento (eosinofilia) apresentando perda dos limites celulares e vasos congestos (figura 3). No grupo STG, tanto P40 quanto no P70, foram observados alguns glomérulos congestos e outros apresentando células glomerulares invadindo o espaço de Bowman; as estruturas tubulares apresentaram perda dos limites e ainda uma discreta vacuolização (figura 3). Já o WSG equiparou-se ao observado no CG, com aspecto de normalidade e preservação tecidual, aos 40 e aos 70 dias de vida.



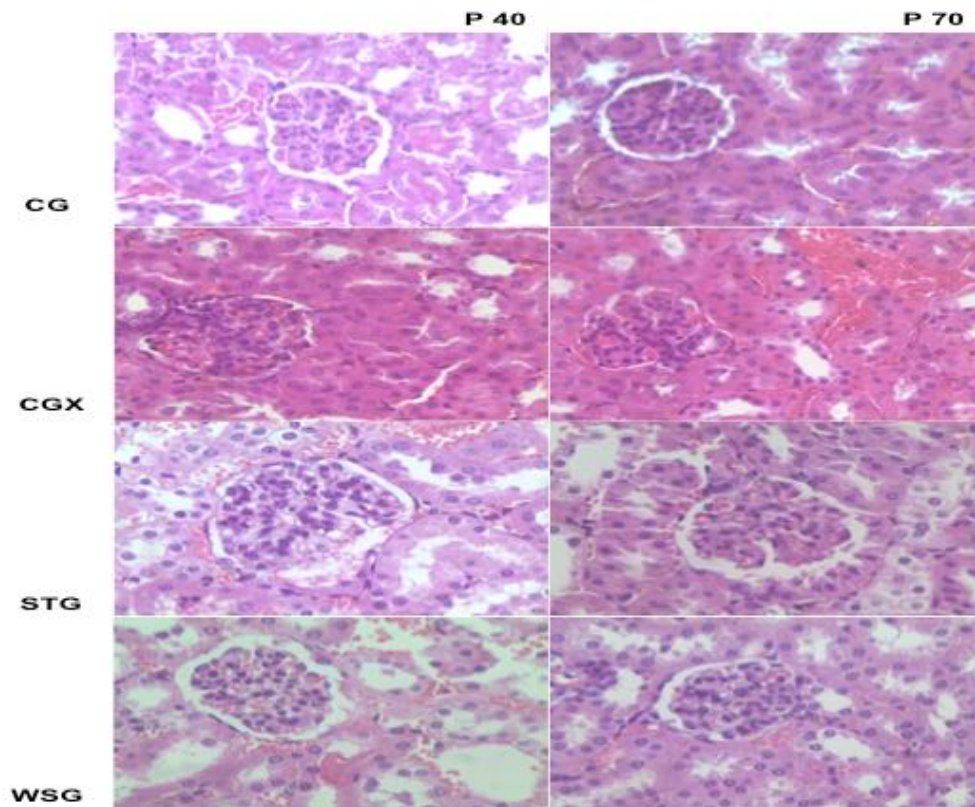


Figura 3 – Histopatologia de rins dos animais (20x, H&E) aos 40 e 70 dias de vida. (CG: Grupo Controle, CGX: Grupo Cantaxantina, STG: Grupo Truta Salmonada e WSG: Grupo Salmão Selvagem)

Na análise histomorfopatológica do fígado, observamos que no CG o tecido apresentava-se com aspecto morfológico normal onde pudemos observar os lóbulos hepáticos preservados, bem como o espaço porta íntegro, tanto para os animais com 40 (figura 4) quanto para os com 70 dias de vida (figura 4). Já ao observamos o tecido hepático do grupo CGX (figura 4), notamos a presença de necrose das células hepatocitárias que apresentavam perda dos limites celulares, grande número de vasos congestionados e depósito de pigmentação do tipo hemossiderina, nos animais com 40 e 70 dias. A análise dos fígados dos animais com 40 dias de vida do grupo STG mostrou manutenção da arquitetura do órgão em seu aspecto geral, apenas com uma discreta tumefação de hepatócitos (figura 4). Já os animais com 70 dias apresentaram maior lesão, com perda da arquitetura do órgão em seu aspecto geral, além de tumefação de hepatócitos, que apresentavam citoplasma eosinofílico. Também foi observada intensa esteatose, inclusive com ruptura de células adiposas, aos 70 dias de vida. (figura 4). Já o WSG apresentou arquitetura preservada, equiparando-se ao CG.

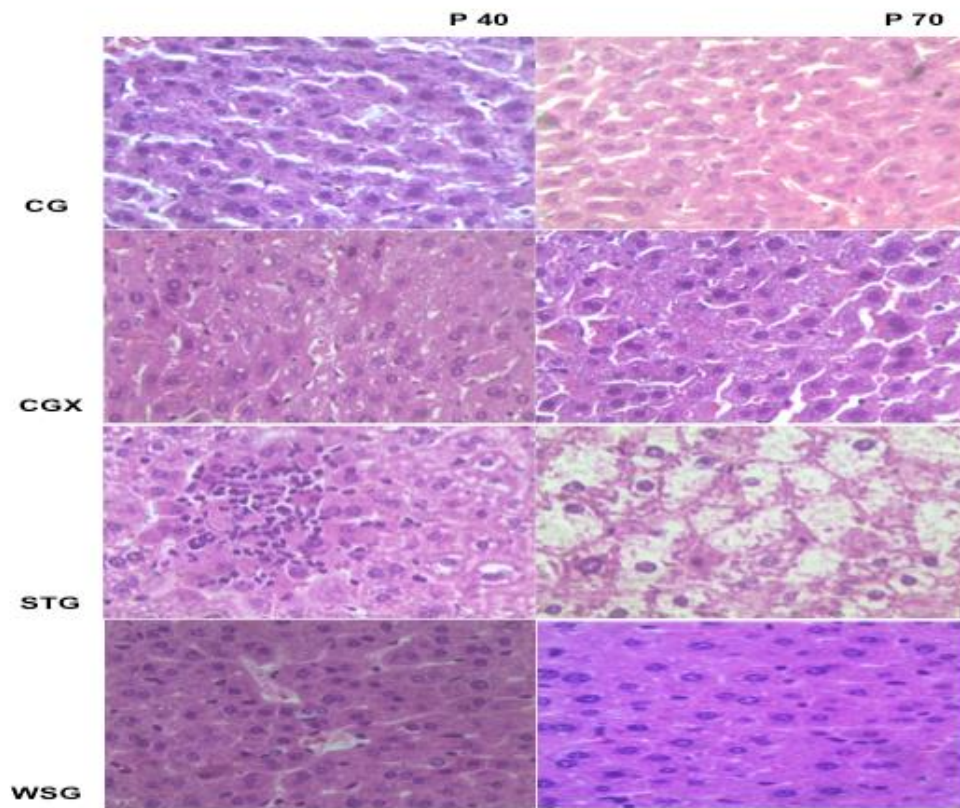


Figura 4 – Histopatologia (20x, H&E) do fígado dos animais aos 40 e 70 dias de vida. (CG: Grupo Controle, CGX: Grupo Cantaxantina, STG: Grupo Truta Salmonada e WSG: Grupo Salmão Selvagem)

### 3.5 GENÉTICA QUÍMICA

A ferramenta Eukaryotic Linear Motif (ELM) apresentou uma série de informações relacionadas aos motivos da RBPII (figura 5).

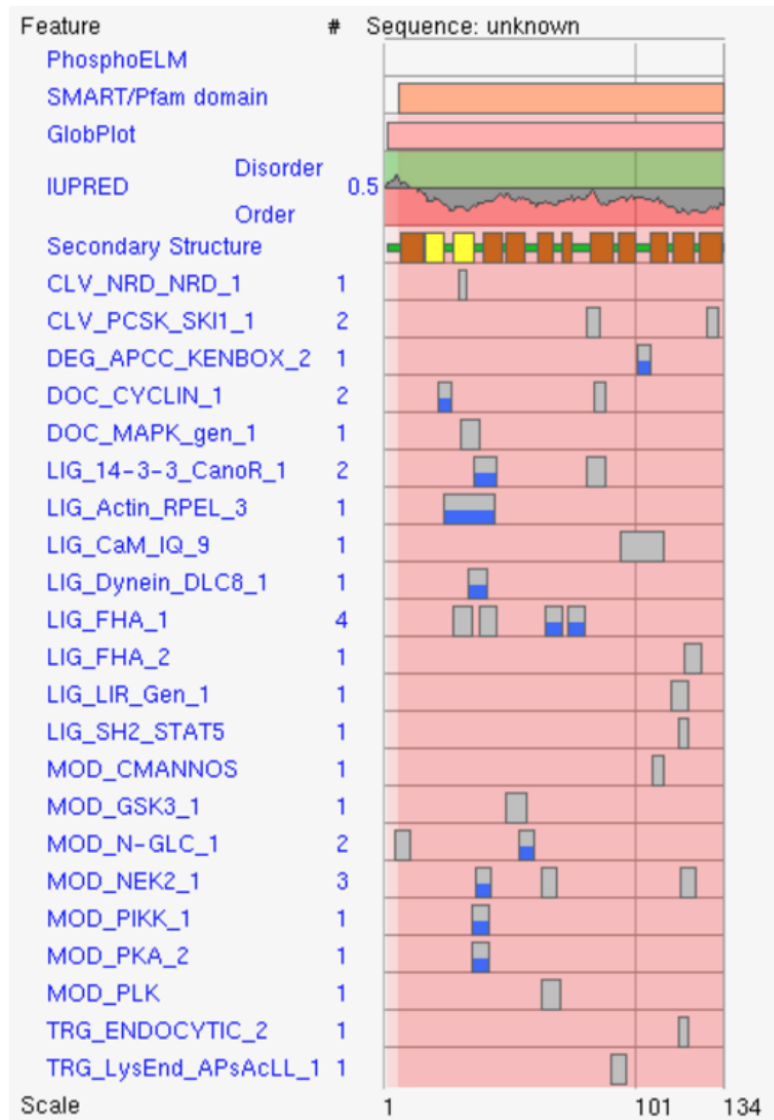


Figura 5 – Resumo de sequência desconhecida

#### 4 DISCUSSÃO

Os grupos do presente estudo obtiveram resultados distintos, tal fenômeno evidencia a possível indução de lesões hepáticas e renais em murinos pelo consumo dietético da cantaxantina. Ambos os grupos consumidores da molécula apresentaram danos teciduais, contrastando com os animais alimentados com a ração controle ou salmão selvagem, os quais não apresentaram alterações patológicas. No que diz respeito ao peso corporal e peso de órgãos, as alterações significativas se restringiram aos animais do grupo truta salmonada eutanasiados com 70 dias de vida, ressaltando o impacto da dieta do pescado criado em cativeiro no produto final que chega ao consumidor.

O grande aumento da demanda mundial por salmão associado a poluição das águas, resultou em alarmante redução das reservas naturais do pescado, logo a criação em cativeiro supre um mercado em franca expansão. A alimentação na aquicultura preza por eficiência no ganho de peso e baixo

custo, o que resultou na substituição da dieta baseada em óleo e farinha de peixe por óleos vegetais como os de soja e canola e farinha de cereais, o que resulta num prejuízo de ômega-3 – uma das características mais visadas do salmão – a custo de aumento dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-6, além do acúmulo de gorduras saturadas (Weaver et al. 2008; Strobel, Jahreis e Kuhnt, 2012).

A truta salmonada é uma alternativa de menor custo, bastante gordurosa e rica em corante artificiais, a qual pode ser comercializada como salmão numa flagrante fraude nutricional. Portanto, o maior ganho ponderal dos animais do grupo STG de 70 dias é um fenômeno atribuído ao alto percentual lipídico da ração, assim como maior tempo de exposição a mesma. Considerando que o consumo de salmonídeos vem sendo recomendado por instituições de referência em saúde, principalmente por suas características nutricionais benéficas a saúde cardiovascular e desenvolvimento fetal, é preocupante que o mercado esteja oferecendo produtos de menor qualidade ao consumidor.

Sendo o fígado um dos maiores sítios de acúmulo de cantaxantina, assim como o principal órgão metabolizador do organismo, as alterações estruturais eram esperadas. Nossos resultados demonstram hepatotoxicidade por consumo isolado do carotenoide e/ou associado a dieta hiperlipídica. A nível histológico, a cantaxantina induziu necrose de hepatócitos e alterações vasculares, sendo estas alterações extensas no CGX, comprovando o acúmulo hepático, assim como alterações na homeostase do órgão.

Embora não existam dados concretos no que tange a mecanismos fisiopatológicos das lesões, alguns trabalhos experimentais *in vivo* e *in vitro* demonstraram a incorporação da molécula em membranas lipídicas e modificações das mesmas, considerando o papel essencial das membranas para a sobrevivência e função celular, postulamos que modificações nos hepatócitos e endotélio dos sinusóides hepáticos podem resultar em alterações subletais e letais (Sujak et al. 2005, 2007, 2009, 2012). Além disso, foi relatada indução e inibição de determinadas enzimas hepáticas de fase I e fase II, sendo que alterações no metabolismo hepático têm potencial lesivo por acúmulo de produtos tóxicos (Jewell e O'Brien, 1999.; Zheng et al. 2013, 2016).

A despeito dos estudos indicando danos induzidos pela molécula, existem vários trabalhos discorrendo sobre os potenciais benéficos da cantaxantina, sendo estes frutos de seu altíssimo potencial antioxidante, principalmente na proteção contra a peroxidação lipídica das membranas (Sujak et al 2005). Porém, estudos afirmam que o efeito antioxidante das moléculas é inversamente proporcional à concentração, Takahashi et al. (2008), demonstraram *in vivo* que a capacidade antioxidante foi mais potente no plasma do que no fígado, sendo que no último sua concentração era

maior. Isso nos parece coerente com o fato de órgãos como o fígado serem agredidos quando expostos a altas doses, ao invés de sofrerem apenas os efeitos benéficos da antioxidação.

Especificamente nos animais consumidores de truta salmonada ocorreu acúmulo de gotículas lipídicas, o percentual de danos foi superior no grupo de 70 dias. A degeneração gordurosa da célula ocorre na lesão hipóxica e em várias formas de lesão metabólica ou tóxica, e é observada principalmente em células envolvidas no metabolismo lipídico, como os hepatócitos (Vinay *et al*, 2010; Silva & Gonçalves, 2008). Acreditamos que esse fato também contribuiu para o aumento do volume celular, que por sua vez leva ao aumento do órgão. Considerando que os processos orgânicos não ocorrem isoladamente, não atribuímos tal alteração exclusivamente a cantaxantina. Portanto, a esteatose seria resultante de uma associação deletéria entre a alta ingestão de gorduras presentes na truta salmonada, com a reduzida capacidade de metabolização lipídica dos hepatócitos – sendo tal dano tóxico induzido pelas altas concentrações de pigmento no pescado.

No que diz respeito aos rins, também são escassos os trabalhos que relacionam lesões ao órgão ligadas à ação da cantaxantina. Nosso estudo evidenciou danos letais e subletais a nível histológico, com presença de alterações glomerulares e tubulares. Na análise macroscópica os rins do STG de 70 dias apresentaram maior peso, a qual pode se correlacionar com a tumefação tubular bastante presente no grupo. Nossas buscas na literatura não apresentaram resultados correlacionando a cantaxantina a danos renais. O papel dos rins como sítio de deposição do pigmento, assim como em seu metabolismo e excreção, deve ser melhor investigado.

Os dados referentes a ação toxicológica da molécula em humanos restringem-se aos danos oftalmológicos relacionados à retinopatia, desencadeada pelo uso de autobronzeadores contendo o carotenoide em doses entre 100-150 mg/kg/dia, contrapondo o que outros estudos demonstram, declarando ocorrência em doses de 30-120 mg/kg/dia, em períodos que variam de três meses a anos. O que se sabe é que, a retinopatia desencadeada pela cantaxantina é reversível após o cessar do contato com o carotenoide, no entanto, esse tempo necessário para a regressão varia de 9 meses a 12 anos, em alguns casos apresentados por outros trabalhos (Prado-Serrano e Carmona, 2009).

Tratando-se da hepatotoxicidade induzida pela cantaxantina, essa ocorre em roedores e pássaros, não sendo demonstrada em primatas. Em estudo onde se utilizaram doses de até 1000 mg/kg/dia em macacos, e humanos com doses de 2 mg/kg/dias não foram verificadas lesões hepáticas (Strube *et al*. 1999).

Uma limitação dos estudos sobre a presente temática é a ausência de um consenso sobre a dose mínima capaz de induzir lesões tóxicas, sendo tal fato consequência da escassez de estudos sobre os efeitos biológicos da molécula. Nosso trabalho utilizou 0,6% de cantaxantina acrescida à ração (juntamente com a caseína), do grupo denominado cantaxantina (CGX), o que corresponde à 785



mg/kg/dia, considerando a média diária de consumo desse mesmo grupo, dose essa, que se encontra entre os valores apresentados por outros estudos.

A utilização da ferramenta Eukaryotic Linear Motif (ELM) foi motivada pela necessidade de entendimento mais aprofundado dos mecanismos de ações específicos da cantaxantina a nível molecular. A partir da análise das proteínas transportadoras RBPI E RBPII presentes nas espécies *Salmo solar*, *Mus musculus* e *Homo sapiens*, foram detectados diversos *motifs* relevantes com ações similares nos organismos avaliados. O potencial de interação e intervenção dessas proteínas em processos celulares fundamentais a sobrevivência, tais como: processamento proteolítico, regulação de várias atividades celulares como expressão gênica, mitose, diferenciação celular, organização do citoesqueleto, transporte de organelas, controle do ciclo celular, da reparação do DNA e regulação da transcrição, indicam uma gama de possíveis ação da cantaxantina ainda não exploradas.

Acreditamos assim, que as lesões que ocorrem nas células do fígado e dos rins vistas na análise microscópica, sejam decorrentes das interações da cantaxantina com diversos componentes celulares, principalmente proteínas executoras de uma gama de processos fisiológicos previamente mencionados. Sendo que a molécula ganha acesso a tais sítios a partir do transporte pelas RBPs e pode ocupar diversos sítios de interação proteica a partir de competição. Portanto, podemos intuir que a ausência ou desregulação de tais atividades serão responsáveis por inúmeros eventos nocivos, podendo levar a alterações e morte celular, que por sua vez irão determinar a condição do organismo afetado.

Como vimos que a grande maioria dos *motifs* são comuns aos camundongos e ao homem, concluímos que as lesões demonstradas nos estudos anatomopatológicos dos camundongos também possam ocorrer no ser humano.

## 5 CONCLUSÃO

Concluímos que a cantaxantina tem ação tóxica importante sobre os rins e fígado da prole de camundongas alimentadas com truta salmonada e que são necessários mais estudos acerca do tema.

## DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Não existem conflitos de interesse.

## AGRADECIMENTOS

Ao PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PIBIC/CNPq/UFRJ pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica nesta temática.

**REFERÊNCIAS**

- Antunes, LMG, Araújo, MCP. MUTAGENICIDADE E ANTIMUTAGENICIDADE DOS PRINCIPAIS CORANTES PARA ALIMENTOS. *Rev Nutr.* 2000;13(2): 81-88.
- Cotta, M.V. Genetic analysis of salmon sushi and sashimi traded in Belo Horizonte MG Brazil. *Unisantia BioScience.* 2015;4(3): 179-188.
- Sujak A, Gabrielska J, Milanowska J, Mazurek P, Strzałka K, Gruszecki WI. Studies on canthaxanthin in lipid membranes. *Biochim Biophys Acta.* 2005 Jun 15;1712(1):17-28.
- Cui, WD, Leng, X, Li, XQ, Li, XN, Xu, J. Effects of astaxanthin and canthaxanthin on pigmentation of muscle and total antioxidant capacity of liver in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries of China.* 2009;33 (6): 987-995.
- Carvalho MG. Influência do processamento de antioxidantes e da estocagem sobre a estabilidade oxidativa lipídica do ovo. [tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2012.
- Merlo, C, Fernandez, PB, Tassano, MLA. Retinopatia por carotenoides. *Oftalmol Clin Exp.* 2011;5(1): 15-17.
- Beaulieu RA, Warwar RE, Buerk BM. Canthaxanthin retinopathy with visual loss: a case report and review. *Case Rep Ophthalmol Med.* 2013;2013:140901.
- Sujak A. Interactions between canthaxanthin and lipid membranes--possible mechanisms of canthaxanthin toxicity. *Cell Mol Biol Lett.* 2009;14(3):395-410.
- Bluhm R, Branch R, Johnston P, Stein R. Aplastic anemia associated with canthaxanthin ingested for 'tanning' purposes. *JAMA.* 1990 Sep 5;264(9):1141-2.
- Esatbeyoglu T, Rimbach G. Canthaxanthin: From molecule to function. *Mol Nutr Food Res.* 2017 06;61(6):1-49.
- Lima, JP, Dias, NAA, Lopes, CO, Angelis-pereira, MC. Atividade e Biodisponibilidade dos Carotenóides no Organismo. *Revista Ciências em Saúde.* 2012;2(1): 65.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993 Nov;123(11):1939-51.
- Vaisbich MH, Nishida SK, Silva MS, Guimarães FA, Pereira AB. [Retinol-binding protein urinary levels in a pediatric population: evolution according to age. *J Pediatr (Rio J).* 1999 Mar-Apr;75(2):105-11.



Dinkel H, Van Roey K, Michael S, Kumar M, Uyar B, Altenberg B, et al. ELM 2016--data update and new functionality of the eukaryotic linear motif resource. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jan 4;44(D1):D294-300.

Barbosa, MC, Neves, FF, Cerqueira, VR. Taxa alimentar no desempenho de juvenis de robalo-peva em tanque-rede. *Acta Sci, Anim Sci.* 2011;33(4): 369-372.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Relatório Sobre Análise de Gordura e Colesterol em Peixes. Relatório. Rio de Janeiro; 2011. (INMETRO – Programa de Análise de Produtos).

Silva, LB, Gonçalves, P. Degeneração gordurosa (Lipidose hepática). *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária.* 2008 ;6(10).

Vinay, K, Abbas, AK, Jon, C. Robbins and Cotran Pathologic - Basis of Disease. (9 ed.). US: Elsevier health sciences; 2014.

Prado, SA, García, KC. Maculopatía por abuso en la ingesta de cantaxantina. *Rev Mex Oftalmol.* 2006;80(5): 279-281.

Goodman DS. Plasma retinol-binding protein. *Ann N Y Acad Sci.* 1980;348:378-90.

Goodman DS. Retinoid-binding proteins in plasma and in cells. *Ann N Y Acad Sci.* 1981 Feb 27;359:69-78.

Kleinová M, Hewitt M, Brezová V, Madden JC, Cronin MT, Valko M. Antioxidant properties of carotenoids: QSAR prediction of their redox potentials. *Gen Physiol Biophys.* 2007 Jun;26(2):97-103.

Weaver KL, Ivester P, Chilton JA, Wilson MD, Pandey P, Chilton FH. The content of favorable and unfavorable polyunsaturated fatty acids found in commonly eaten fish. *J Am Diet Assoc.* 2008 Jul;108(7):1178-85.

Strobel C, Jahreis G, Kuhnt K. Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. *Lipids Health Dis.* 2012 Oct 30;11:144.

Sujak A, Gagos M, Dalla Serra M, Gruszecki WI. Organization of two-component monomolecular layers formed with dipalmitoylphosphatidylcholine and the carotenoid pigment, canthaxanthin. *Mol Membr Biol.* 2007 Sep-Dec;24(5-6):431-41.

Sujak A. Exceptional molecular organization of canthaxanthin in lipid membranes. *Acta Biochim Pol.* 2012;59(1):31-3.

Jewell C, O'Brien NM. Effect of dietary supplementation with carotenoids on xenobiotic metabolizing enzymes in the liver, lung, kidney and small intestine of the rat. *Br J Nutr.* 1999 Mar;81(3):235-42.

Zheng YF, Bae SH, Kwon MJ, Park JB, Choi HD, Shin WG, et al. Inhibitory effects of astaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, canthaxanthin, lutein, and zeaxanthin on cytochrome P450 enzyme activities. *Food Chem Toxicol.* 2013 Sep;59:78-85.

Zheng YF, Min JS, Kim D, Park JB, Choi SW, Lee ES, et al. In Vitro Inhibition of Human UDP-Glucuronosyl-Transferase (UGT) Isoforms by Astaxanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Canthaxanthin, Lutein, and Zeaxanthin: Prediction of in Vivo Dietary Supplement-Drug Interactions. *Molecules.* 2016 Aug 12;21(8):E1052.

1. Takahashi, NS, Tsukamoto, RY, Tabata, YA, Rigolino, M.G. TRUTA SALMONADA processo produtivo em constante aprimoramento no Brasil. *Panorama da aquicultura.* [Online] 2008;(105): Available from: <https://panoramadaaquicultura.com.br/truta-salmonada-processo-produtivo-em-constante-aprimoramento-no-brasil/> [Accessed 6 Jan 2016].

Strube, M, Dragsted, LO. *Naturally Occurring Antitumourigens Pt 4: Carotenoids except beta-carotene.* (1 ed.). Copenhagen: TemaNord; 1999. STRUBE, M. ; *Naturally Occurring Antitumourigens. Pt. 4: Carotenoids except beta-carotene.* Nordic Council of Ministeries 2009.